

(19)

Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 866 069 A2

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
23.09.1998 Patentblatt 1998/39

(51) Int. Cl.⁶: C07F 9/655

(21) Anmeldenummer: 98104657.6

(22) Anmeldetag: 14.03.1998

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC
NL PT SE

Benannte Erstreckungsstaaten:

AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 18.03.1997 EP 97104554

(71) Anmelder:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

4070 Basel (CH)

(72) Erfinder:

- Dlubala, Alain
68170 Rixheim (FR)
- Nösberger, Paul
4127 Birsfelden (CH)

(54) Herstellung von Ascorbylmonophosphaten

(57) Ein Verfahren zur Herstellung von Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalzen von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat besteht darin, ein L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat unter alkalischen Bedingungen mit einem Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalz von L-Ascorbinsäure in konzentrierter wässriger Lösung umzusetzen, wobei die Mengen des L-Ascorbinsäuresalzes und des als Base verwendeten Erdalkalimetallhydroxids so bestimmt werden, dass der pH-Wert des Reaktionsmediums im Bereich von etwa 8 bis etwa 11 gehalten wird und eine schrittweise Uebertragung jeweils einer Phosphatgruppe vom Polyphosphat auf das L-Ascorbinsäuresalz erfolgt, bis im wesentlichen das Polyphosphat aufgebraucht worden ist und nur noch L-Ascorbinsäure-2-monophosphatsalz vorhanden ist. Vorzugsweise wird das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat in situ hergestellt und Calciumhydroxid als Base verwendet. Ungeachtet davon, ob das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat separat oder in situ hergestellt wird, verwendet man dazu als bevorzugtes Phosphorylierungsmittel Natriumtrimetaphosphat. Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung besteht darin, dass man nach beendeter Reaktion, Abkühlen und Verdünnen bis zu einer geeigneten Viskosität das erhaltene Gemisch sprühtrocknet. Das Produkt des erfindungsgemässen Verfahrens eignet sich als Zusatzstoff für menschliche und tierische Nahrungsmittel; es ist besonders gegen oxidativen und thermischen Abbau stabil und weist einen besonders hohen Gehalt an L-Ascorbinsäure-monophosphat gegenüber Polyphosphaten auf und wird deswegen und vor allem vorzugsweise zur nährenden Anreicherung von Fischfutter eingesetzt.

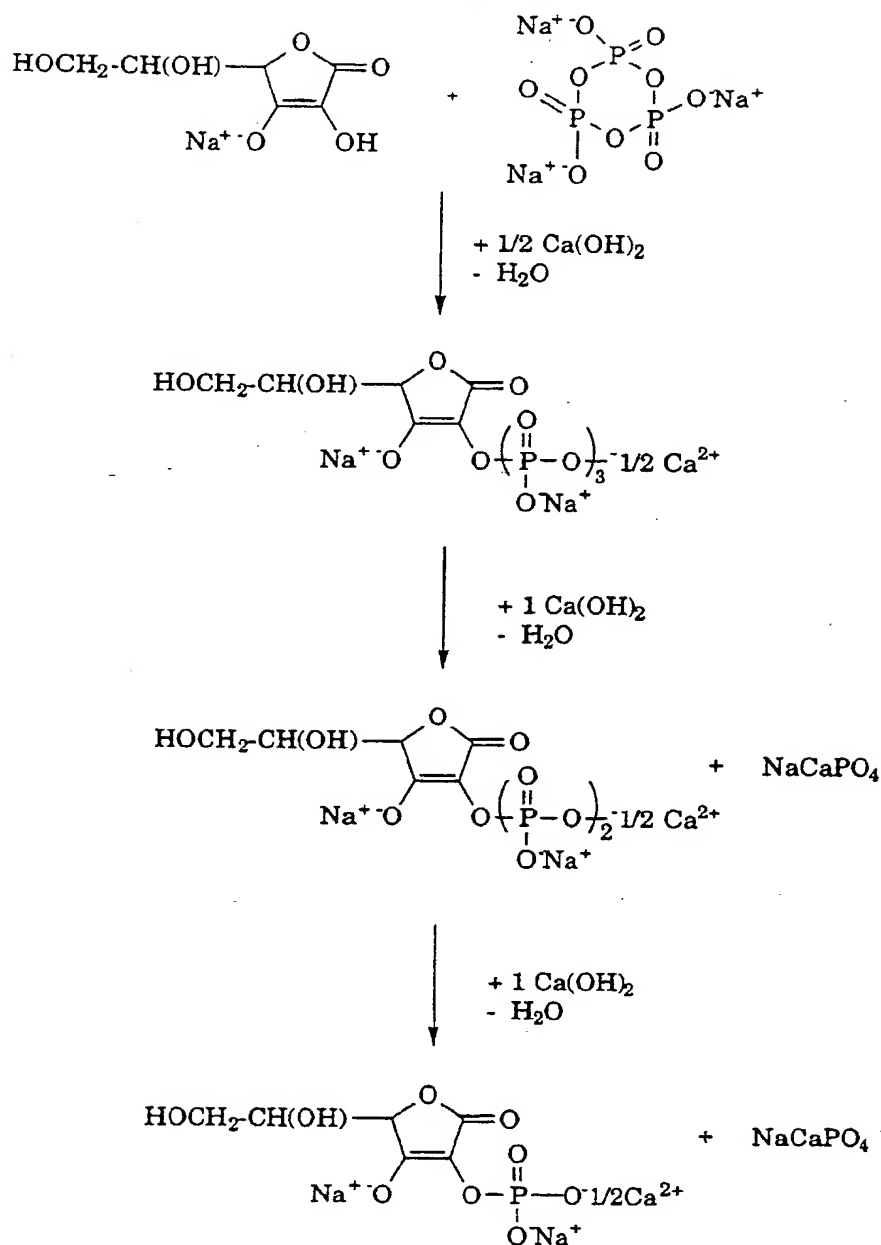
EP 0 866 069 A2

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung von Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalzen von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat, und zwar ausgehend von einem L-Ascorbinsäuresalz, einem L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat sowie einem Erdalkalimetallhydroxid als Base.

Ascorbinsäure (Vitamin C) und deren Salze werden bekanntlich als Zusatzstoffe für menschliche und tierische Nahrungsmittel verwendet. Ascorbinsäure selber ist allerdings temperatur- und oxidationsempfindlich und wird beispielsweise bei der Herstellung und Lagerung von angereichertem Fischfutter zu einem erheblichen Teil zersetzt und geht dadurch verloren. Insbesondere die Ascorbinsäurephosphate stellen bekanntlich gegen oxidativen und thermischen Abbau geschützte Formen der Ascorbinsäure dar und werden deswegen und vor allem zur nährenden Anreicherung von Fischfutter eingesetzt. Bei Verwendung der gegenüber Ascorbinsäure wesentlich stabileren Ascorbinsäurephosphate wird das Problem der Zersetzung praktisch vollkommen beseitigt und die beispielsweise gegen Skorbut in Fischen und Krabben wirksame Ascorbinsäure im Organismus des Wirtstiers durch Einwirkung des Enzyms Phosphatase freigesetzt.

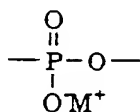
Zur Phosphorylierung von Ascorbinsäure sind bisher zwei grundsätzlich verschiedene Verfahren von Bedeutung, und zwar die Phosphorylierung mit Phosphoroxchlorid (wie diese beispielsweise in den Europäischen Patentpublikationen 388.869 und 582.924 sowie in der US-Patentschrift 4.179.445 beschrieben ist), und die Phosphorylierung mit Polyphosphaten, z.B. Natriumtrimetaphosphat (siehe beispielsweise die US-Patentschriften 4.647.672 und 5.110.950), wobei in beiden Fällen ein L-Ascorbinsäuresalz unter basischen Bedingungen phosphoryliert wird. Das erstere Verfahren liefert als Hauptprodukt Ascorbinsäure-2-monophosphat, als Nebenprodukte hauptsächlich Ascorbinsäure-3-phosphat und -2-pyrophosphat sowie Bis(Ascorbinsäure)-2,2'-diphosphat [siehe C.H. Lee et al., Carbohydrate Res. 67, 127-138 (1971)]. Die Reaktionsprodukte müssen aufwendig gereinigt werden und können nicht auf einfache Weise, z.B. durch Sprühtrocknung des gesamten Reaktionsgemisches, in ein direkt verkäufliches Produkt umgesetzt werden. Aus diesen Gründen stellt die Phosphorylierung mit Phosphoroxchlorid wirtschaftlich und ökologisch ein wenig attraktives Verfahren dar. Das alternative Verfahren, d.h. die Phosphorylierung mit Polyphosphaten, liefert als Primärprodukt Ascorbinsäure-2-polyphosphate, beispielsweise Ascorbinsäure-2-triphosphat bei Verwendung von Natriumtrimetaphosphat. Die Ascorbinsäure-2-polyphosphate können durch einen Ueberschuss an Base bis zum Monophosphat abgebaut werden. Das Verhältnis von Ascorbinsäure-2-monophosphat zu Ascorbinsäure-2-diphosphat und höheren Phosphaten wird durch die Menge an verwendeter Base und die sonstigen Reaktionsbedingungen beeinflusst. Ein Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, dass sehr viel Phosphorylierungsmittel, z.B. mindestens 1 Mol Natriumtrimetaphosphat pro Mol Ascorbinsäure, benötigt wird. Wenn das Produkt verhältnismässig wenig Ascorbinsäurepolyphosphate und mehr Ascorbinsäure-2-monophosphat enthalten soll, muss zudem viel Base, z.B. Calciumhydroxid, verwendet werden. Demzufolge enthält das Produkt viel anorganische Phosphate; der Gehalt an Ascorbinsäure-Äquivalenten in einem getrockneten Produkt beträgt höchstens etwa 25 Gewichtsprozent. Der Ablauf des in der US-Patentschrift 5.110.950 beschriebenen Verfahrens, sofern es zur Herstellung des Monophosphats eingesetzt wird, ist aus dem nachfolgenden einschlägigen Reaktionsschema 1 ersichtlich, in welchem - zwecks einer übersichtlichen und vereinfachten Darstellung - von Natriumascorbat, dem bevorzugten Phosphorylierungsmittel Natriumtrimetaphosphat und der Base Calciumhydroxid ausgegangen wird:

Reaktionsschema 1

50 In diesem Verfahren wird Natriumascorbat mit Natriumtrimetaphosphat in einem Molverhältnis von 1:1 unter Einwirkung von insgesamt 2,5 Mol Calciumhydroxid umgesetzt, um nach drei Schritten 1 Mol Ascorbinsäure-2-monophosphat zu erzeugen. Dabei werden zwei Mol Natriumcalciumphosphat freigesetzt, dessen Vorhandensein im Gesamtprodukt als Nachteil anzusehen ist.

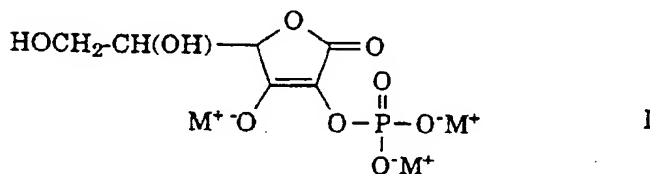
55 Es wurde nun gefunden, dass mit Polyphosphat-Phosphorylierungsmitteln, z.B. Natriumtrimetaphosphat, auch hauptsächlich Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalze von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat hergestellt werden können, wenn man das primär gebildete L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat unter bestimmten alkalischen Bedingungen mit einer konzentrierten Lösung eines Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalzes der L-Ascorbinsäure umsetzt, wobei im Verlaufe

der Reaktion eine schrittweise Uebertragung von jeweils einer Phosphatgruppe

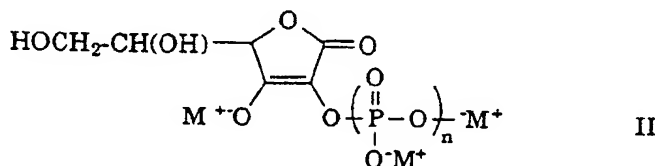


des Polyphosphats auf das L-Ascorbinsäuresalz erfolgt, bis im wesentlichen das Polyphosphat aufgebraucht worden ist und nur noch L-Ascorbinsäure-2-monophosphatsalz vorhanden ist. Dadurch können die benötigten Mengen an Phosphorylierungsmittel und Base drastisch reduziert und die Hauptnachteile der bekannten Verfahren eliminiert werden.

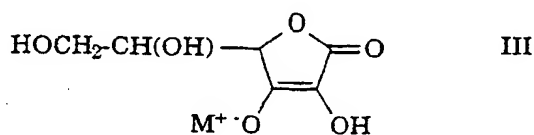
Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung von Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalzen von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat, der allgemeinen Formel



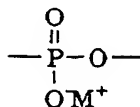
worin M^+ jeweils ein Alkalimetallion oder das Aequivalent eines Erdalkalimetallions bedeutet, ist dadurch gekennzeichnet, dass man ein L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der allgemeinen Formel



worin M^+ die oben angegebene Bedeutung besitzt und n eine ganze Zahl ab 2 bedeutet, unter alkalischen Bedingungen mit einem Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalz von L-Ascorbinsäure, der allgemeinen Formel

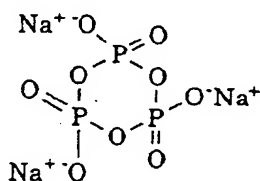


worin M^+ die oben angegebene Bedeutung besitzt, in konzentrierter wässriger Lösung umgesetzt, wobei die Mengen des L-Ascorbinsäuresalzes der Formel III und des als Base verwendeten Erdalkalimetallhydroxids so bestimmt werden, dass der pH-Wert des Reaktionsmediums im Bereich von etwa 8 bis etwa 11 gehalten wird und eine schrittweise Uebertragung jeweils einer Phosphatgruppe

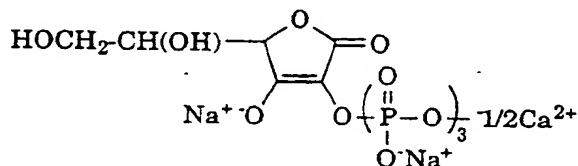
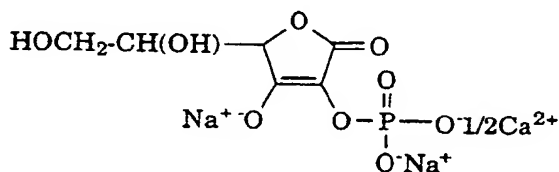


vom Polyphosphat der Formel II auf das L-Ascorbinsäuresalz der Formel III erfolgt, bis im wesentlichen das Polyphosphat aufgebraucht worden ist und nur noch L-Ascorbinsäure-2-monophosphatsalz der Formel I vorhanden ist.

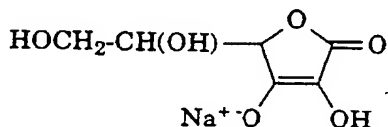
Im Rahmen der obigen Definition ist unter dem Ausdruck "Alkalimetallion" insbesondere ein Natrium- oder Kaliumion zu verstehen, vorzugsweise ein Natriumion. Bei dem Erdalkalimetallion handelt es sich insbesondere um ein Calciumion oder ein Magnesiumion, wobei das Ersterwähnte bevorzugt ist. In diesem Fall wird in Anbetracht seiner Zweiwertigkeit das Erdalkalimetallion jeweils als halbes Ion dargestellt, so dass beispielsweise ein Calciumion M^{+} in der Formel I, II oder III in diesem Sinne als $1/2 Ca^{2+}$ dargestellt wird. Obwohl die Ionen M^{+} in den Formeln I, II und III gleich oder verschieden sein können, hängen die einzelnen Bedeutungen von der Natur des zur Herstellung des Polyphosphats der Formel II verwendeten L-Ascorbinsäuresalzes der Formel III und des Phosphorylierungsmittels sowie von der Natur der eingesetzten alkalischen Base ab, wobei unter anderem auch Ionenaustausch eine Rolle spielt. Geeigneterweise wird die gleiche Base für die Herstellung des Polyphosphats eingesetzt als die im erfindungsgemässen Verfahren verwendete Base. Anhand eines Beispiels kann dies erläutert werden: Im Falle der Verwendung des Natriumsalzes der L-Ascorbinsäure (der Formel III, in der $M^{+} Na^{+}$ bedeutet), des Phosphorylierungsmittels Natriumtrimetaphosphat, der Formel



und von Calciumhydroxid $[Ca(OH)_2]$ als Base (alle bevorzugte Reaktionsteilnehmer) können die Formeln I, II und III unter anderem und vereinfacht wie folgt dargestellt werden:



bzw.

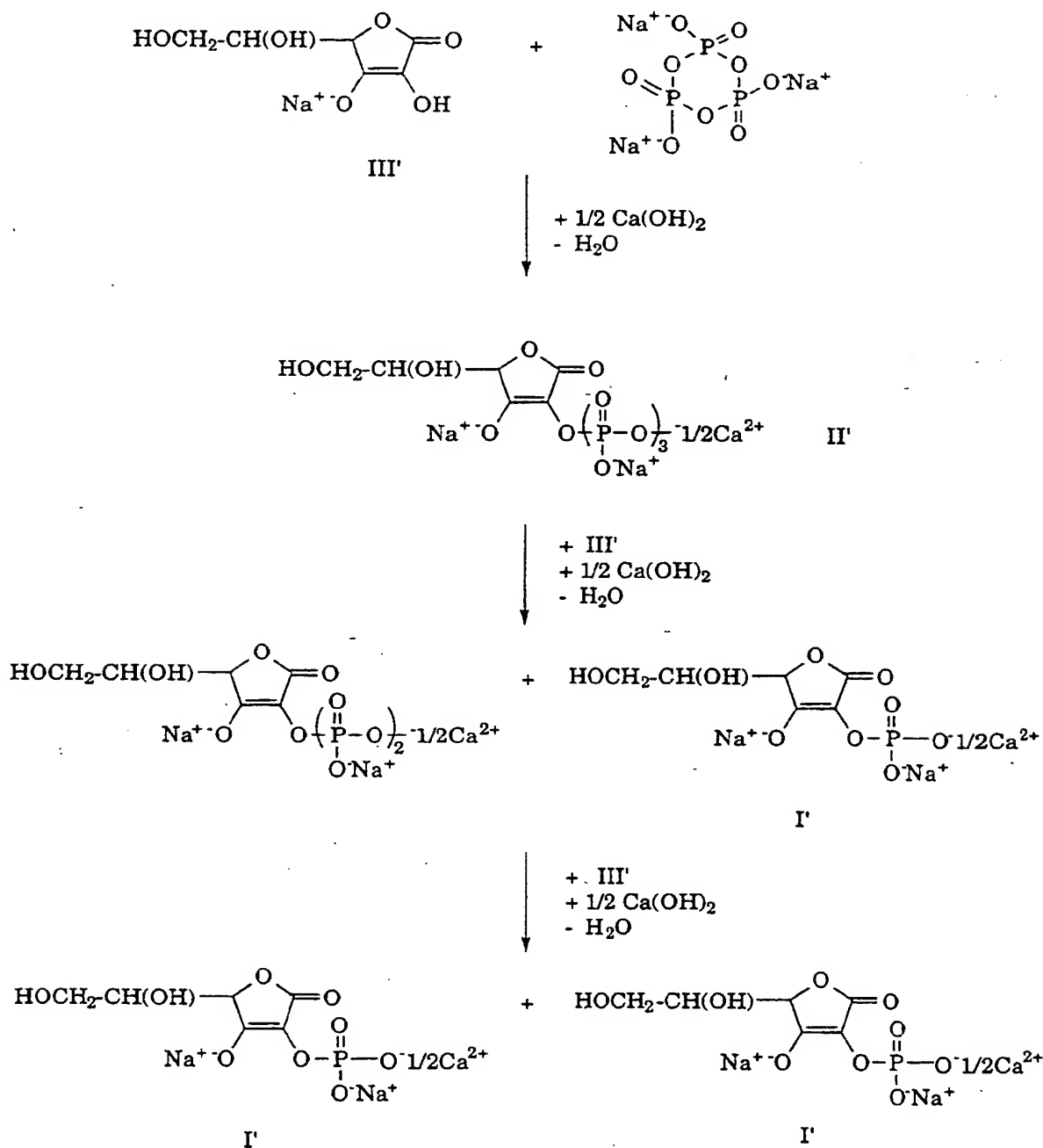


Daraus ist ersichtlich, dass n von der Natur des Phosphorylierungsmittels abhängt: beispielsweise bedeutet n 3, wenn als Phosphorylierungsmittel Natriumtrimetaphosphat verwendet wird, bzw. 6, wenn dazu Natriumhexametaphosphat verwendet wird. Darüber hinaus soll berücksichtigt werden, dass das Produkt der Formel I bzw. I' unvermeidlich als Gemisch verschiedener Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalze von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat anfällt und nie durch eine einzige Formel I dargestellt werden kann.

Aus dem nachfolgenden einschlägigen Reaktionsschema 2, in welchem zwecks einer übersichtlichen und vereinfachten Darstellung von dem L-Ascorbinsäure-Natriumsalz der Formel III' und dem Phosphorylierungsmittel Natriumtrimetaphosphat (zur Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats der Formel II') sowie der Base Calciumhydroxid ausgegangen wird, ist der Ablauf des erfindungsgemässen Verfahrens ersichtlich; es wird dabei ein

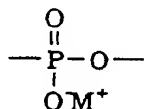
L-Ascorbinsäure-2-monophosphat hergestellt, das u.a. Moleküle der Formel I' aufweist:

Reaktionsschema 2



beträgt.

Falls die separate Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats der Formel II erwünscht wird, so kann diese Herstellung auf an sich bekannte Weise erfolgen, zweckmässigerweise nach der in der US-Patentschrift 5.110.950 beschriebenen Methode. Das Reaktionsprodukt kann isoliert (eingedampft) oder aber unmittelbar als wässrige Lösung für die weitere Umsetzung (mit dem L-Ascorbinsäuresalz der Formel III) verwendet werden. Als Phosphorylierungsmittel für die separate (und ebenfalls für die in situ-)Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats ist Natriumtrimetaphosphat bevorzugt, wobei das Polyphosphat drei Phosphatgruppen



im Molekül ($n = 3$) aufweist. Höhere Metaphosphate, z.B. das bereits oben erwähnte Natriumhexametaphosphat, oder Polyphosphorsäure sind prinzipiell auch anwendbar.

Was die in situ-Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats anbelangt, so wird das Phosphorylierungsmittel zweckmässigerweise der konzentrierten Lösung des L-Ascorbinsäuresalzes zugegeben. Das Phosphorylierungsmittel, z.B. Natriumtrimetaphosphat, kann beispielsweise als wässrige Lösung oder als Feststoff zugegeben werden, wobei die letztere Zugabemethode bevorzugt ist. Zweckmässigerweise erfolgt ebenfalls die Zugabe der Base, z.B. Calciumhydroxid, entweder separat oder in einem Gemisch mit dem Phosphorylierungsmittel. Die gleichzeitige Zugabe des Phosphorylierungsmittels und der Base, insbesondere durch Zugabe eines Gemisches der beiden, ist bevorzugt.

Bei der Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-monophosphats selber ist die Art und Weise der Zugabe der einzelnen Reaktanden von besonderer Bedeutung. Das L-Ascorbinsäuresalz der Formel III muss immer gegenüber dem L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der Formel II im Ueberschuss im Reaktionsmedium vorhanden sein. Dies wird beispielsweise dadurch erreicht, dass man zuerst eine möglichst konzentrierte (annähernd gesättigte) wässrige Lösung des L-Ascorbinsäuresalzes vorbereitet, und zwar zweckmässigerweise durch Behandlung einer konzentrierten wässrigen Lösung von Ascorbinsäure mit Alkalilauge, z.B. Natronlauge. Dann wird verteilt auf die ganze Reaktionsdauer der konzentrierten wässrigen Lösung des L-Ascorbinsäuresalzes das (separat hergestellte) L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat bzw. das Phosphorylierungsmittel (zur in situ-Herstellung dieses Polyphosphats), z.B. Natriumtrimetaphosphat, sowie Base, z.B. Calciumhydroxid, zugegeben, so dass das (gegebenenfalls in situ-hergestellte) L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat und das L-Ascorbinsäuresalz unter den herrschenden alkalischen Bedingungen gleich miteinander reagieren. Dabei muss der pH-Wert durch die Zugabe der Base innerhalb des Bereiches von etwa 8 bis etwa 11 gehalten werden. Da das Reaktionsmedium möglichst konzentriert sein soll, werden im Falle der in situ-Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats das Phosphorylierungsmittel und die Base vorteilhaft als Feststoffe zugegeben. Der pH-Wert kann durch entsprechende Dosierung der Base kontinuierlich eingestellt werden, auch wenn sich diese im Gemisch mit dem Phosphorylierungsmittel befindet, und zwar durch gelegentliche Festlegung des Verhältnisses Phosphorylierungsmittel zu Base. Zudem soll die Geschwindigkeit der Zugabe von Phosphorylierungsmittel und Base so eingestellt werden, dass kein L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat ausfällt; die Reaktion wird demgemäss so geführt, dass das Polyphosphat möglichst rasch mit dem L-Ascorbinsäuresalz über das (jeweils) weniger polyphosphorylierte L-Ascorbinsäuresalz, z.B. das L-Ascorbinsäure-2-diphosphat, zum L-Ascorbinsäure-2-monophosphat weiter reagiert. In der Praxis wird zu diesem Zweck das Phosphorylierungsmittel am Anfang eher rasch, gegen Ende der Reaktion eher langsam, zugegeben. Zudem empfiehlt sich, eine gute Durchmischung der Reaktanden zu gewährleisten, damit die zugegebenen, festen Ausgangsmaterialien rasch in einen intensiven Kontakt mit dem flüssigen Reaktionsmedium gebracht werden.

Bei dem im erfindungsgemässen Verfahren verwendeten L-Ascorbinsäuresalz handelt es sich vorzugsweise um ein Alkalimetallsalz, insbesondere um das Natriumsalz ($\text{III} = \text{III}'$), da solche Salze besonders wasserlöslich sind. Alkalimetallsalze der Ascorbinsäure können beispielsweise im voraus durch Laktonisierung von Estern der 2-Keto-L-gulonsäure, z.B. 2-Keto-L-gulonsäure-methylester, mit Natriumbicarbonat, Natriumcarbonat oder Natriumhydroxid (Natronlauge) erhalten werden. In jedem Fall wird eine wässrige Lösung des Salzes hergestellt, vorzugsweise eine bei der Reaktionstemperatur nahezu gesättigte Lösung.

Zur Einstellung des pH-Wertes innerhalb des Bereiches von etwa 8 bis etwa 11 wird im Falle der in situ-Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats zweckmässigerweise etwa 0,5 bis etwa 0,8 Mol, vorzugsweise etwa 0,55 bis etwa 0,65 Mol, Erdalkalimetallhydroxid pro Mol L-Ascorbinsäuresalz zugegeben. Von den Erdalkalimetallhydroxiden ist Calciumhydroxid bevorzugt. Da die Erdalkalimetallhydroxide nicht besonders wasserlöslich sind, kann das Erdalkalimetallhydroxid als Suspension in Wasser zugegeben werden. Bevorzugt wird allerdings das Erdalkalimetallhydroxid als Feststoff, insbesondere - wie oben erwähnt - im Gemisch mit dem Phosphorylierungsmittel (in situ-Herstellung des L-Ascorbinsäure-2-polyphosphats), zugegeben.

Die Menge an verwendetem Phosphorylierungsmittel wird so gewählt, dass schliesslich der Gehalt an L-Ascorbinsäure-2-monophosphat im Endprodukt möglichst hoch ist, d.h. dass möglichst viel L-Ascorbinsäuresalz aufgebraucht wird. Bei Verwendung von Natriumtrimetaphosphat wird dies zufriedenstellend erreicht, wenn pro Mol L-Ascorbinsäuresalz etwa 0,3 bis etwa 0,5 Mol, vorzugsweise etwa 0,35 bis etwa 0,45 Mol, Phosphorylierungsmittel, verwendet wird.

Das erfindungsgemässe Verfahren erfolgt zweckmässigerweise bei Temperaturen im Bereich von etwa 20°C bis etwa 80°C, vorzugsweise bei Temperaturen im Bereich von etwa 40°C bis etwa 60°C. Im allgemeinen wird im Verlauf des Verfahrens die Temperatur allmählich erhöht, beispielsweise anfänglich von etwa 40°C bis etwa 60-70°C gegen Ende der Reaktion. Nach beendeter Reaktion wird die Temperatur vorteilhafterweise gesenkt, um die Reaktion abzu-
stoppen.

Während der Reaktion beträgt der pH-Wert vorzugsweise etwa 9 bis etwa 10. Bei zu tiefem pH-Wert ist die Reaktion zu langsam. Ein zu hoher pH-Wert ist ebenfalls nachteilig. Der pH-Wert soll nicht wesentlich höher als 10, auf jeden Fall nicht höher als etwa 11, sein, da das L-Ascorbinsäuresalz unter stark alkalischen Bedingungen nur wenig stabil ist und da vermehrt anorganische Phosphate gebildet werden. Bei zu hohem pH-Wert werden L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat und weniger phosphoryliertes L-Ascorbinsäuresalz, z.B. L-Ascorbinsäure-2-diphosphat, durch Abspaltung von Phosphatgruppen mit der Base und nicht durch Reaktion mit L-Ascorbinsäuresalz zu L-Ascorbinsäure-2-monophosphat umgesetzt; dadurch erhöht sich der Anteil an anorganischen Salzen im Endprodukt, was klarerweise einen Nachteil darstellt.

Die zum Erreichen einer zufriedenstellenden Ausbeute an L-Ascorbinsäure-2-monophosphat der Formel I notwendige Reaktionszeit hängt von verschiedenen Faktoren ab, insbesondere von der Reaktionstemperatur, vom pH-Wert, von der Menge Wasser im Reaktionsmedium sowie von der Rührintensität. Im allgemeinen gilt, dass das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat eher langsam zugegeben bzw. in situ hergestellt wird als rasch. Wenn der pH-Wert und die Temperatur nicht unnötig hoch sind und keine übermässige Menge Sauerstoff vorhanden ist, ist eine eher lange Reaktionszeit nicht nachteilig. Typisch sind Reaktionszeiten von etwa 1 bis etwa 4 Stunden, vorzugsweise von etwa 1 1/2 bis etwa 2 1/2 Stunden.

Nach beendeter Reaktion kann das erhaltene Gemisch abgekühlt, z.B. auf etwa 30-40°C, und mit Wasser bis zu einer für eine Sprühtrocknung geeigneten Viskosität, z.B. etwa 100 mPa, verdünnt und schliesslich sprühtrocknet werden. Falls sprühtrocknet wird, fallen praktisch keine Abfallprodukte an, welche nachträglich zwangsläufig zu entsorgen wären. Vorteilhaft bei dem erfindungsgemässen Verfahren sind die weitgehende Vermeidung von Abfallprodukten und der hohe Gehalt (hohe Ausbeute) an gewünschtem L-Ascorbinsäure-2-monophosphat der Formel I. Dadurch werden die Rohstoffkosten und die Energiekosten bei der Sprühtrocknung auf ein Minimum reduziert.

Das erfindungsgemässe Verfahren wird anhand der nachfolgenden Beispiele veranschaulicht, in denen - mit Ausnahme des Beispiels 2 - der Gehalt an L-Ascorbinsäure-2-monophosphat und -2-polyphosphaten jeweils in L-Ascorbinsäure-Aequivalenten angegeben ist:

Beispiel 1

Umsetzung von L-Ascorbinsäure-2-triphosphat (Hauptanteil des verwendeten, so bezeichneten Gemisches) mit Natriumascorbat

In einem 750 ml-Reaktionsgefäss mit Doppelmantel werden unter Rühren und unter einer Stickstoffatmosphäre bei 60°C 67,3 g (340 mmol) Natriumascorbat zu 50 ml Wasser gegeben und dabei grösstenteils gelöst. Der pH-Wert wird mit 3,7 g Calciumhydroxid auf 9,5 eingestellt. Im Verlaufe von 2 Stunden werden portionenweise 87 g festes L-Ascorbinsäure-2-triphosphat (HPLC-Analyse: 4,3% Ascorbinsäure, 0,5% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat, 1,4% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat sowie 21,1% L-Ascorbinsäure als 2-Triphosphat) zugegeben, und zwar 58 g während der ersten und 29 g während der zweiten Stunde. Der pH-Wert wird durch Zugabe von 33,9 g Calciumhydroxid bei 9,5 gehalten. Es wird soviel Wasser (insgesamt 50 g) zugegeben, dass die Suspension immer gut rührbar ist. Nach beendeter Reaktion wird der Ansatz zur Trockene eingedampft (Wassergehalt: 10,5%). Die HPLC-Analyse des getrockneten Produkts ergibt 10,9% (verbleibende, nicht phosphorylierte) L-Ascorbinsäure, 34,5% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat und 0,6% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat. L-Ascorbinsäure-2-triphosphat ist nicht mehr nachweisbar.

Beispiel 2

a) Separate Herstellung einer L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat-Lösung

In einem 500 ml-Reaktionsgefäss mit Doppelmantel werden 150 ml Wasser auf 0°C abgekühlt. Dann werden unter Rühren 114,44 g Natriumtrimetaphosphat zugegeben. Der pH-Wert wird mit Kalkmilch (einer 20%-igen Suspension von Calciumhydroxid in Wasser) auf 11 eingestellt, was die Natriumtrimetaphosphat-Lösung ergibt.

67,32 g Natriumascorbat werden in 150 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit Kalkmilch auf 11 eingestellt. Dann wird die Lösung auf 0°C abgekühlt, was die Natriumascorbat-Lösung ergibt.

Die Natriumascorbat-Lösung wird rasch zur Natriumtrimetaphosphat-Lösung gegeben. Die Temperatur wird im Verlaufe von 2 Stunden auf 30°C angehoben. Der pH-Wert wird mit Kalkmilch bei 11 gehalten. Nach 2 Stunden wird der Ansatz auf 0°C abgekühlt, was die L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat-Lösung ergibt.

b) Umsetzung von L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat mit Natriumascorbat

In einem 500 ml-Reaktionsgefäß mit Doppelmantel werden unter Rühren und einer Stickstoffatmosphäre 134,64 g Natriumascorbat bei 60°C in 100 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit Kalkmilch auf 10,5 eingestellt. Die Hälfte der L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat-Lösung wird innerhalb einer Stunde, der Rest innerhalb von zwei Stunden zugegeben. Der pH-Wert wird mit Kalkmilch bei 10,5 gehalten. Während der letzten zwei Stunden wird unter vermindertem Druck Wasser abdestilliert. Nach beendeter Reaktion wird mit Schwefelsäure auf pH 7 neutralisiert und der Ansatz mit 300 ml Wasser verdünnt. Die Analyse mittels HPLC ergibt folgende Verteilung der L-Ascorbinsäure: 14,3% nicht phosphoryliert, 76,2% als Monophosphat, 7,6% als Diphosphat, <1% als Triphosphat und <2% als weitere L-Ascorbinsäure-2-polyphosphate.

Beispiel 3

In situ-Herstellung von L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat und dessen Umsetzung mit Natriumascorbat

In einem 500 ml-Reaktionsgefäß mit Doppelmantel werden 100 g Wasser vorgelegt. Danach wird durch Ansetzen von Vakuum entgast. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen, und 176 g (1 mol) Ascorbinsäure werden zugegeben. Unter Rühren und vermindertem Druck wird die Ascorbinsäure mit 141,6 g 28%iger Natronlauge neutralisiert. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen und die Temperatur auf 50°C eingestellt. Unter Stickstoff wird innert 2 Stunden ein Gemisch aus 142,8 g (0,467 mol) Natriumtrimetaphosphat und 51,9 g (0,7 mol) Calciumhydroxid zugegeben. Am Anfang wird rasch, gegen Ende der Reaktion langsam zugegeben. Man rührt 60 Minuten nach, neutralisiert das Reaktionsgemisch mit 5,2 g 98%iger Schwefelsäure und verdünnt mit 300 g Wasser. Vom Reaktionsgemisch wird ein Aliquot (etwa 10 ml) entnommen und unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft. Die Analyse mittels HPLC ergibt 1,3% L-Ascorbinsäure, 34,3% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat und 3,5% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat, insgesamt 42,0% phosphorylierte Ascorbinsäure.

Beispiele 4-7

Diese Beispiele wurden analog Beispiel 3 durchgeführt, allerdings unter veränderten Reaktionsbedingungen. Insbesondere wurde die Menge an Natriumtrimetaphosphat allmählich reduziert. Die erhaltenen Resultate sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle

Beispiel	4	5	6	7
Wasser (g)	50	50	50	50
ASC (g)	176	176	176	176
NaOH 28% (g)	163,5	166	163,5	163,5
STMP (g)	132,6	112,2	102	91,8
Ca(OH) ₂ (g)	37	37	37	33,3
H ₂ SO ₄ (g)	4	8,8	10,4	8,9
Wasser (g)	200	200	200	200
Reaktionslösung (g)	763,1	750	738,9	723,5
Temperatur (°C)	40-60	40	40-60	40-60
pH-Wert der NaASC-Lösung	9,9	10	10	10
STMP/Ca(OH) ₂ -Zugabe in	2 h	4 h	2 h	2 h
Nachrühren	0,25	h 1 h	0,25 h	0,25 h
HPLC-Analyse (ASC-Aequivalente):				
nicht phosphorylierte ASC (%)	5	7,1	8,7	11,4
ASC als Monophosphat (%)	31,6	37,9	39,4	38,1
ASC als Diphosphat (%)	6,2	2,5	1,2	0,9
ASC-Phosphate total (%)	39,3	41,5	41,6	39,6
ASC total (%)	44,3	48,6	50,3	51
ASC = L-Ascorbinsäure STMP = Natriumtrimetaphosphat NaASC = Natriumascorbat				

Beispiel 8Wirbelschichttrocknung des Produktes

In einem 750 ml-Reaktionsgefäß mit Doppelmantel werden 165 g Wasser vorgelegt. Danach wird durch Ansetzen von Vakuum entgast. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen, und 176 g (1 mol) Ascorbinsäure werden zugegeben. Unter Rühren werden 88,4 g 50%ige Natronlauge zugegeben. Der pH-Wert beträgt dann 9,1. Die Temperatur auf 40°C eingestellt. Innert zwei Stunden wird unter Stickstoff gleichmässig ein Gemisch aus 132,6 g (0,433 mol) Natriumtrimetaphosphat und 44,45 g (0,6 mol) Calciumhydroxid zugegeben und die Temperatur im Reaktor auf 60°C erhöht. Es wird 30 Minuten nachgerührt, auf 40°C abgekühlt und mit 200 g Wasser verdünnt. Dann wird das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck eingedampft. Das resultierende feste Produkt wird vermahlen und im Wirbelschichttrockner mit 10 m³ heisser Luft bei 100°C während 30 Minuten getrocknet. Man erhält 364 g beige-braunes Pulver mit einer Restfeuchte von 6,3%. Die HPLC-Analyse ergibt 3% L-Ascorbinsäure, 33,2% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat und 3,8% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat, insgesamt 37,6% phosphorylierte Ascorbinsäure.

Beispiel 9Sprühtrocknung des Produktes

In einem 500 ml-Reaktionsgefäß mit Doppelmantel werden 100 g Wasser vorgelegt. Danach wird durch Ansetzen von Vakuum entgast. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen, und 176 g (1 mol) Ascorbinsäure werden zugegeben. Unter Rühren und vermindertem Druck wird die Ascorbinsäure mit 142,8 g 28%iger Natronlauge neutralisiert. Der pH-

Wert wird durch Zugabe von 18,6 g Calciumhydroxid auf 10 gestellt. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen und die Temperatur auf 40°C eingestellt. Unter Stickstoff wird innert 4 Stunden ein Gemisch aus 132,6 g (0,433 mol) Natriumtrimetaphosphat und 48,2 g (0,65 mol) Calciumhydroxid zugegeben. Man rührt 90 Minuten nach, neutralisiert das Reaktionsgemisch mit 7,1 g 98%iger Schwefelsäure und verdünnt mit 300 g Wasser. Das gesamte Reaktionsgemisch wird in einem Labor-Sprühturm sprühgetrocknet. Gemäss HPLC-Analyse enthält das Pulver 3,7% L-Ascorbinsäure, 38% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat und 2,8% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat, insgesamt 46,9% phosphorylierte Ascorbinsäure.

Beispiel 10

Verwendung von Natriumascorbat aus der Laktonisierung von 2-Keto-L-gulonsäure-methylester

208,4 g 2-Keto-L-gulonsäure-methylester werden in 500 g Methanol gelöst, und die Lösung wird unter Rühren zum Sieden erhitzt. Im Verlaufe von 2 Stunden werden 52 g Natriumcarbonat zugegeben. Der pH-Wert beträgt dann 8. Man rührt 30 Minuten nach, kühlt auf 40°C, filtriert das ausgefällte Natriumascorbat ab und wäscht es mit 100 g Methanol. Das feuchte Natriumascorbat wird im Trockenschrank bei 40°C unter vermindertem Druck getrocknet. Man erhält etwa 198,1 g rohes Natriumascorbat mit einem Gehalt an reinem Natriumascorbat von etwa 94%.

In einem 500 ml-Reaktionsgefäss mit Doppelmantel werden unter Stickstoff 198,1 g rohes Natriumascorbat in 230 g Wasser bei 40°C gelöst. Innert 2 Stunden wird die Temperatur auf 60°C erhöht und ein Gemisch aus 132,6 g (0,433 mol) Natriumtrimetaphosphat und 44,45 g (0,6 mol) Calciumhydroxid zugegeben. Man rührt 30 Minuten nach, kühlt auf 40°C ab und verdünnt mit 200 g Wasser. Das gesamte Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bei einer Badtemperatur von 60°C möglichst rasch eingedampft, in einer Reibschale vermahlen und im Trockenschrank bei 60°C unter vermindertem Druck nachgetrocknet (Gewichtsausbeute: 375,8 g). Der Wassergehalt beträgt 6,7%. Gemäss HPLC-Analyse enthält das Pulver 3,7% L-Ascorbinsäure, 31,0% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat, 3,6% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat sowie 1,9% L-Ascorbinsäure als 2-Triphosphat.

Beispiel 11

Verwendung von Natriumascorbat aus der Laktonisierung von 2-Keto-L-gulonsäure-methylester ohne Isolierung des Natriumascorbats

208,4 g 2-Keto-L-gulonsäure-methylester werden in 500 g Methanol gelöst, und die Lösung wird unter Rühren zum Sieden erhitzt. Im Verlaufe von 2 Stunden werden 52 g Natriumcarbonat zugegeben. Dabei steigt der pH-Wert nicht wesentlich über 8. Man rührt 30 Minuten nach, verdünnt mit 230 g Wasser und destilliert die Hauptmenge an Methanol über eine Vigreux-Kolonne ab. Der Destillationsrückstand (439 g) wird auf 40°C abgekühlt. Dann wird unter Stickstoff im Verlaufe von 2 Stunden die Temperatur von 40°C auf 60°C erhöht und ein Gemisch aus 132,6 g Natriumtrimetaphosphat und 44,45 g Calciumhydroxid zugegeben. Man rührt 30 Minuten nach. Das gesamte Reaktionsgemisch wird unter vermindertem Druck bei einer Badtemperatur von 60°C möglichst rasch eingedampft, in einer Reibschale vermahlen und im Trockenschrank bei 60°C unter vermindertem Druck nachgetrocknet (Gewichtsausbeute: 388 g). Der Wassergehalt beträgt 9%. Gemäss HPLC-Analyse enthält das Pulver 3,6% L-Ascorbinsäure, 30,2% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat, 4,9% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat sowie 0,9% L-Ascorbinsäure als 2-Triphosphat.

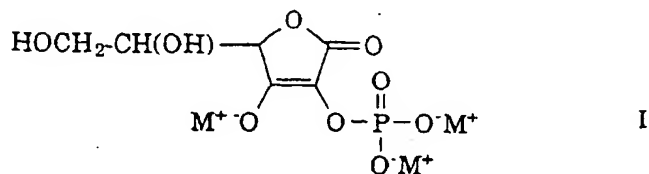
Beispiel 12

Verwendung von Kaliumhydroxid als Base

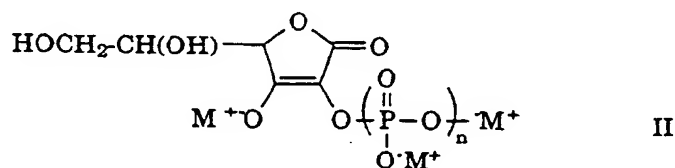
In einem 750 ml-Reaktionsgefäss mit Doppelmantel werden 175,6 g Wasser vorgelegt und durch Ansetzen von Vakuum entgast. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen, und 176 g (1 mol) Ascorbinsäure werden zugegeben. Unter Rühren und vermindertem Druck wird die Ascorbinsäure mit 113,2 g 55,9%iger Kalilauge neutralisiert. Das Vakuum wird mit Stickstoff gebrochen und die Temperatur auf 40°C eingestellt. Innert 2 Stunden wird unter einer Stickstoffatmosphäre die Temperatur von 40°C auf 60°C erhöht und ein Gemisch aus 132,6 g (0,433 mol) Natriumtrimetaphosphat und 48,2 g (0,65 mol) Calciumhydroxid zugegeben. Man rührt 15 Minuten nach und verdünnt mit 200 g Wasser. Das gesamte Reaktionsgemisch wird unter vermindertem Druck bei einer Badtemperatur von 60°C möglichst rasch eingedampft, in einer Reibschale vermahlen und im Trockenschrank bei 60°C unter vermindertem Druck nachgetrocknet (Gewichtsausbeute: 391,7 g). Der Wassergehalt beträgt 5%. Gemäss HPLC-Analyse enthält das Pulver 4,7% L-Ascorbinsäure, 32,5% L-Ascorbinsäure als 2-Monophosphat, 3,9% L-Ascorbinsäure als 2-Diphosphat sowie 1,1% L-Ascorbinsäure als 2-Triphosphat.

Patentansprüche

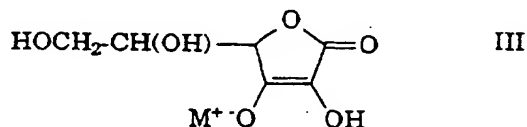
1. Verfahren zur Herstellung von Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalzen von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat, der allgemeinen Formel



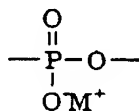
worin M^+ jeweils ein Alkalimetallion oder das Äquivalent eines Erdalkalimetallions bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man ein L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der allgemeinen Formel



worin M^+ die oben angegebene Bedeutung besitzt und n eine ganze Zahl ab 2 bedeutet, unter alkalischen Bedingungen mit einem Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalz von L-Ascorbinsäure, der allgemeinen Formel

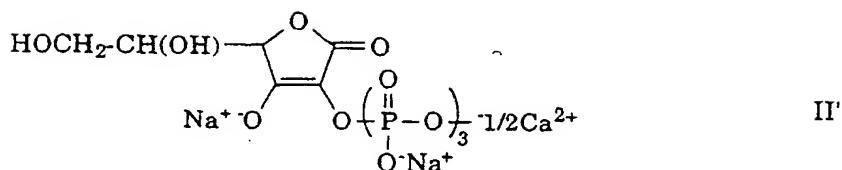


worin M^+ die oben angegebene Bedeutung besitzt, in konzentrierter wässriger Lösung umgesetzt, wobei die Mengen des L-Ascorbinsäuresalzes der Formel III und des als Base verwendeten Erdalkalimetallhydroxids so bestimmt werden, dass der pH-Wert des Reaktionsmediums im Bereich von etwa 8 bis etwa 11 gehalten wird und eine schrittweise Übertragung jeweils einer Phosphatgruppe

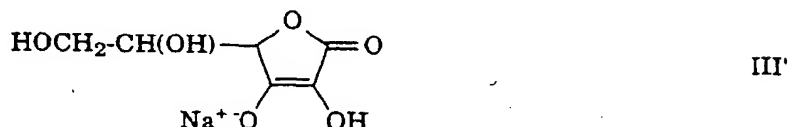


vom Polyphosphat der Formel II auf das L-Ascorbinsäuresalz der Formel III erfolgt, bis im wesentlichen das Polyphosphat aufgebraucht worden ist und nur noch L-Ascorbinsäure-2-monophosphatsalz der Formel I vorhanden ist.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der Formel II in situ hergestellt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass als L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat eines der Formel



, als Alkalimetallsalz von L-Ascorbinsäure eines der Formel



und als Base Calciumhydroxid verwendet werden.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der Formel II bzw. II' unter Verwendung von Natriumtrimetaphosphat als Phosphorylierungsmittel separat hergestellt wurde bzw. in situ hergestellt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der Formel II in situ hergestellt wird und zu diesem Zweck ein Gemisch von Natriumtrimetaphosphat als Phosphorylierungsmittel mit der Base, vorzugsweise Calciumhydroxid, zugegeben wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der Formel II in situ hergestellt wird, und dass pro Mol L-Ascorbinsäuresalz der Formel III etwa 0,5 bis etwa 0,8 Mol, vorzugsweise etwa 0,55 bis etwa 0,65 Mol, Erdalkalimetallhydroxid eingesetzt wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat der Formel II in situ hergestellt wird, und dass pro Mol L-Ascorbinsäuresalz der Formel III etwa 0,3 bis etwa 0,5 Mol, vorzugsweise etwa 0,35 bis etwa 0,45 Mol, Phosphorylierungsmittel Natriumtrimetaphosphat verwendet wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktion bei Temperaturen im Bereich von etwa 20°C bis etwa 80°C, vorzugsweise im Bereich von etwa 40°C bis etwa 60°C, erfolgt.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der pH-Wert etwa 9 bis etwa 10 beträgt.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass nach beendeter Reaktion, Abkühlen und Verdünnen bis zu einer für eine Sprühtrocknung geeigneten Viskosität das erhaltene Gemisch sprühtrocknet wird.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 866 069 A3

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:
23.02.2000 Patentblatt 2000/08

(51) Int. Cl.⁷: **C07F 9/655**

(43) Veröffentlichungstag A2:
23.09.1998 Patentblatt 1998/39

(21) Anmeldenummer: **98104657.6**

(22) Anmeldetag: **14.03.1998**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC
NL PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: **18.03.1997 EP 97104554**

(71) Anmelder:
**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
4070 Basel (CH)**

(72) Erfinder:
• **Diubala, Alain
68170 Rixheim (FR)**
• **Nösberger, Paul
4127 Birsfelden (CH)**

(54) Herstellung von Ascorbylmonophosphaten

(57) Ein Verfahren zur Herstellung von Alkalimetall- und Erdalkalimetallsalzen von L-Ascorbinsäure-2-monophosphat besteht darin, ein L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat unter alkalischen Bedingungen mit einem Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalz von L-Ascorbinsäure in konzentrierter wässriger Lösung umzusetzen, wobei die Mengen des L-Ascorbinsäuresalzes und des als Base verwendeten Erdalkalimetallhydroxids so bestimmt werden, dass der pH-Wert des Reaktionsmediums im Bereich von etwa 8 bis etwa 11 gehalten wird und eine schrittweise Uebertragung jeweils einer Phosphatgruppe vom Polyphosphat auf das L-Ascorbinsäuresalz erfolgt, bis im wesentlichen das Polyphosphat aufgebraucht worden ist und nur noch L-Ascorbinsäure-2-monophosphatsalz vorhanden ist. Vorzugsweise wird das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat in situ hergestellt und Calciumhydroxid als Base verwendet. Ungeachtet davon, ob das L-Ascorbinsäure-2-polyphosphat separat oder in situ hergestellt wird, verwendet man dazu als bevorzugtes Phosphorylierungsmittel Natriumtrimetaphosphat. Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung besteht darin, dass man nach beendeter Reaktion, Abkühlen und Verdünnen bis zu einer geeigneten Viskosität das erhaltene Gemisch sprühtrocknet. Das Produkt des erfindungsgemässen Verfahrens eignet sich als Zusatzstoff für menschliche und tierische Nahrungsmittel; es ist besonders gegen oxidativen und thermischen Abbau stabil und weist einen besonders hohen Gehalt an L-Ascorbinsäure-monophosphat gegenüber Polyphosphaten auf und wird deswegen und vor allem vorzugsweise zur nährenden Anreicherung von Fischfutter eingesetzt.

EP 0 866 069 A3



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 98 10 4657

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
A	EP 0 508 233 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 14. Oktober 1992 (1992-10-14) * das ganze Dokument *	1-10	C07F9/655
D,A	US 5 110 950 A (PAUL A. SEIB) 5. Mai 1992 (1992-05-05) * das ganze Dokument *	1-10	
A	LIAO MING-LONG: "A stable form of vitamin C : L-ascorbate-2-triphosphate." JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY., Bd. 38, Nr. 2, 1990, Seiten 355-366, XP002126717 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. WASHINGTON., US ISSN: 0021-8561 * Seite 357, linker Spalte, unten *	1-10	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			C07F
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 29. Dezember 1999	Prüfer Beslier, L
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : Älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

EPO FORM 1503 03.92 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 98 10 4657

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

29-12-1999

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 508233	A	14-10-1992	AT 141922 T	15-09-1996
			DE 59206973 D	02-10-1996
			DK 508233 T	16-09-1996
			JP 5155893 A	22-06-1993
			US 5849933 A	15-12-1998

US 5110950	A	05-05-1992	KEINE	

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

THIS PAGE BLANK (USPTO)